

孕妇感染HCMV时IgG抗体亲和力与HCMV DNA联合检测的临床意义



董玉琳

【摘要】 目的 本文通过研究 HCMV-IgG 亲和力指数 (avidity index, AI) 以及 HCMV-DNA 的检测, 对孕产妇原发性感染及继发性感染进行综合评价。旨在为防止和减少围产期感染、流产及新生儿先天畸形、听力障碍和智力障碍提供有效而准确的检测数据及临床诊断依据。方法 采用德国 Virion/serion 公司酶联免疫吸附试验 (ELISA) 定量试剂, 检测孕妇血清中 HCMV 的 IgM 和 IgG 抗体、IgG 抗体亲和力; 采用中山大学达安公司 RV 核酸扩增 (PCR) 荧光定量检测孕妇血清中 HCMV-DNA, 并对其结果进行分析。结果 341 例孕妇中, HCMV-IgG 低亲和力样本孕产史不良孕妇组所占比例显著高于初次妊娠孕妇。孕产史不良孕妇 HCMV-DNA 阳性例数所占比例显著高于初次妊娠孕妇。结论 341 例孕妇中存在一定比例的 HCMV 现症感染, 建议妊娠妇女尤其是有不良孕产史者尽可能同时进行 HCMV-IgG 亲和力指数及 HCMV-DNA 检查, 以便尽早采取措施, 避免由于 HCMV 感染导致的新生儿出生缺陷的发生。

【关键词】 孕妇; 巨细胞病毒; 亲和力指数; HCMV DNA

The Clinical Significance of IgG Avidity in Pregnant Women Infected with HCMV and HCMV DNA Detection/DONG Yu-lin.//Medical Innovation of China, 2012, 9(28):008-010

【Abstract】 Objective :This article through the study of HCMV-IgG avidity index (avidity the index , AI) and HCMV-DNA detection , maternal primary infection and secondary infection of a comprehensive evaluation. Designed to prevent and reduce perinatal infections , abortion and neonatal congenital malformations , hearing impairment and mental retardation to provide effective and accurate test data and clinical diagnosis is based on. Method Using the German Virion / serion enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) quantitative reagent , detected in maternal serum of HCMV IgM and IgG antibodies and IgG avidity; Zhongshan Medical University , Tat RV nucleic acid amplification (PCR) fluorescence quantitative detection maternal serum levels in HCMV-DNA , and the results were analyzed. Result 341 cases of pregnant women , maternal history of poor pregnant women group of HCMV-IgG low affinity sample proportion was significantly higher than the initial pregnancy. The adverse pregnancy history of pregnant women HCMV-DNA positive proportion of the number of cases was significantly higher than the initial pregnancy. Conclusion 341 cases of pregnant women in a certain proportion of HCMV now disease infection ; it is recommended that pregnant women especially those with history of adverse pregnancy by as much as possible HCMV-IgG avidity index and HCMV-DNA checks in order to take early measures to avoid due to HCMV infection causes the occurrence of birth defects.

【Key words】 Pregnant women ; Human cytomegalovirus ; Avidity index ; HCMV DNA

First-author's address: Yan'an Hospital of Kunming , Kunming 650051 , China

doi : 10.3969/j.issn.1674-4985.2012.28.004

巨细胞病毒 (cytomegalovirus, CMV) 为疱疹病毒科属的线性双链 DNA 病毒, 感染人类的巨细胞病毒简称 HCMV (human cytomegalovirus)。巨细胞包涵体病是巨细胞病毒通过胎盘传播的, 孕妇感染巨细胞病毒是导致围产期感染、

流产、死胎、早产、先天畸形、听力障碍及智力障碍的主要原因之一。本文通过研究 341 例孕妇的 HCMV-IgG 亲和力指数 (avidity index, AI) 以及 HCMV-DNA 的检测, 对孕产妇原发性感染及继发性感染进行综合评价。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选择 2010 年 5 月 -2012 年 7 月在昆明市延安医院进行检查的门诊孕妇 341 例。应用定量 ELISA 技术

昆明市延安医院 云南 昆明 650051

通讯作者: 董玉琳

& Biological Psychiatry, 2007, 31(1) : 32-40.

[7] Buchanan R W, Freedman R, Javitt D C, et al. Recent advances in the development of novel pharmacological agents for the treatment of cognitive impairments in schizophrenia[J]. Schizophr Bull, 2007, 33(5) : 1120-1130.

[8] Buchanan R W, Freedman R, Javitt D C, et al. Recent advances in the development of novel pharmacological agents for the treatment of

cognitive impairments in schizophrenia[J]. Schizophr Bull, 2007, 33(5) : 1120-1130.

[9] 郑如 苏银法. 石杉碱甲的临床应用研究进展 [J]. 实用药物与临床, 2008, 11(2) : 107.

[10] 朱小群, 孙中武. 皮质下缺血性血管性痴呆 [J]. 安徽医学, 2009, 30(2) : 132-133.

(收稿日期: 2012-06-08) (本文编辑: 连胜利)

检测其 HCMV-IgM 及 HCMV-IgG 抗体, 根据检测结果及妊娠史将之分为初次妊娠孕妇组 (237 例) 及孕产史不良孕妇组 (104 例)。104 例孕产史不良妇女中, 习惯性流产 47 例, 胚胎停止发育 38 例, 胎儿畸形 6 例, 死胎 11 例, 智力低下儿 2 例。根据 HCMV-IgG 或 IgM 抗体测定结果又分为四组 :A 组 IgM(-)/IgG(+); B 组 IgM(+)/IgG(+); C 组 IgM(+)/IgG(-); D 组 IgM(-)/IgG(-)。

1.2 标本采集与保存 所用孕产妇均为空腹静脉采血。抗体检测抽血 4~5 ml, 2 h 内分离血清。-18~-20℃ 保存备用, 一周内完成检测。HCMV-DNA 检测抽血 1 ml, EDTA 抗凝, 当天完成检测。所有检测由专人完成。

1.3 HCMV 抗体定量检测及亲和力检测 采用定量 ELISA 技术检测孕产妇血清中 HCMV 的 IgM 和 IgG 抗体、IgG 亲和力试剂。试剂为德国 Virion/serion(维润赛润)有限公司产品。酶标仪为美国 BioRad 公司产品。酶标检测定量判断软件由德国维润赛润公司提供。操作严格按照试剂说明书进行操作, 每批样本检测均进行室内质控。质控品与样本同时检测, 室内质控每次检测在控。

1.3.1 HCMV 抗体阳性判断临界值 CMV-IgM 为 10~15 U/ml ;

CMV-IgG 为 25~40 U/ml ; 低于临界值下限的判断为阴性, 高于临界值上限的判为阳性。并对可疑样本进行核实复查。

1.3.2 HCMV 抗体亲和力指数的测定 通过上述检测判定为 IgG 阳性的血清样本, 进行亲和力检测。根据维润赛润公司提供的软件计算样本的 AI 值。AI<45% 为低亲和力抗体, 表示原发性感染 (少于 4 周)。AI 介于 45%~55% 为中等亲和力抗体, AI>55% 为高亲和力抗体, 后两者提示既往 HCMV 感染 (包括病毒再感染)。

1.4 FQ-PCR 检测血清 HCMV DNA 采用 RV 核酸扩增(PCR) 荧光定量检测。试剂为中山医科大学达安基因公司产品。检测仪器为 ABI prism 7000 型核酸扩增实时荧光检测仪。操作严格按照试剂说明书提取 DNA 及 PCR 扩增。每次试验严格按照试剂盒提供的阳性标准品做标准曲线, 试验设阴性、阳性及空白对照。

1.5 统计学处理 采用 SPSS 17.0 软件对数据进行统计学处理, 多组样本间采用 χ^2 检验进行比较, 检验水准 $\alpha=0.05$ 。

2 结果

2.1 各组间 HCMV IgG 亲和力指数检测结果见表 1。

表1 HCMV-IgG阳性样本中抗体亲和力指数结果

例

样本	组别	抗体结果	例数	AI		
				AI<45%	45% AI 55%	AI>55%
初次妊娠	A 组	IgM(-)/IgG(+)	164	0	0	164
	B 组	IgM(+)/IgG(+)	3	1	0	2
孕产史不良	A 组	IgM(-)/IgG(+)	80	5	19	56
	B 组	IgM(+)/IgG(+)	15	3	4	8

167 例初次妊娠孕妇与 95 例孕产史不良孕妇抗体亲和力检测结果如表 1 所示, 经 χ^2 检验, HCMV-IgG 低亲和力样本孕产史不良孕妇所占比例显著高于初次妊娠孕妇, 差异有统计学意义 ($\chi^2=10.229, P<0.05$)。初次妊娠 A 组中 164 例全为高亲和力样本, 提示 HCMV 隐性感染。B 组中 3 例样本中 1 例为低亲和力抗体, 提示原发感染, 2 例为高亲和力抗

体提示与继发感染有关。孕产史不良孕妇 A 组 5 例 (6.25%) HCMV-IgG 阳性患者为低亲和力抗体, 提示 HCMV 原发感染后期。B 组 3 例 (20%) 样本为低亲和力抗体, 提示存在原发感染 ;4 例样本为中等亲和力抗体, 提示 1-3 月内的既往原发感染 ;8 例样本为高亲和力抗体样本, 提示与继发感染有关。

2.2 各组间 HCMV-DNA 检测结果见表 2。

表2 HCMV-DNA与HCMV感染的关系

例

样本	组别	抗体结果	例数	HCMV-DNA 阳性数
初次妊娠	A 组	IgM(-)/IgG(+)	164	0
	B 组	IgM(+)/IgG(+)	3	1
	C 组	IgM(+)/IgG(-)	1	1
	D 组	IgM(-)/IgG(-)	69	0
孕产史不良	A 组	IgM(-)/IgG(+)	80	21
	B 组	IgM(+)/IgG(+)	15	9
	C 组	IgM(+)/IgG(-)	7	7
	D 组	IgM(-)/IgG(-)	2	1

237 例初次妊娠孕妇与 104 例孕产史不良孕妇 HCMV-DNA 检测结果如表 2 所示, 经 χ^2 检验, 孕产史不良孕妇阳性例数所占比例显著高于初次妊娠孕妇, 差异有统计学意义 ($\chi^2=60.567, P<0.05$)。237 例初次妊娠组中, 有 2 例 HCMV-DNA 阳性。104 例孕产史不良组中, 有 36 例 HCMV-DNA 阳性均提示胎儿有感染风险。孕产史不良 D 组中, 1 例样本

HCMV-DNA 阳性, 提示患者可能处于 HCMV 感染窗口期, 抗体还未出现, 但 HCMV-DNA 已可检测出。孕产史不良 B 组中, 亲和力试验表明 15 例样本中有 7 例存在原发感染及 1~3 月内的既往原发感染, 但 HCMV-DNA 中有 9 例样本阳性, 表明继发感染中可能存在新毒株再次感染使 HCMV-DNA 可被检出。

3 讨论

我国孕妇中 HCMV-IgG 抗体阳性率高达 80%~100%，孕妇感染 HCMV 可发生在妊娠的各个时期，可由原发感染和继发感染引起。以往 HCMV-IgM 一直被认为是 HCMV 活动性感染与潜伏性感染的评价指标^[1]。本文中，对 HCMV 的原发与继发性感染进行了评估，目前检测 HCMV-IgG 亲和力广泛应用的检测方法即亲和力试剂法^[2]。本文通过检测 HCMV-IgM/IgG 先筛选出 341 名孕妇，分组后通过检测 IgG 抗体亲和力指数评估两组孕妇 HCMV 的原发性感染及继发感染情况，同时对两组孕妇的血样进行 HCMV-DNA 检测，用以评估胎儿的感染风险。

巨细胞病毒是造成先天性伤害的最常见原因。在怀孕期间，母亲的 HCMV 原发感染对于胎儿的危险明显高于继发感染。因为巨细胞的继发感染同样会形成 IgM 抗体，所以不能单独通过检测病原体特异性 IgM 抗体来确定原发感染。Bodeus 等^[3]报道，IgG 亲和力指数高的孕妇，即使 IgM 阳性，仍可判定为 HCMV 继发感染，不需要做产前诊断。此外，在巨细胞病毒 IgM 抗体测定时，经常能观察到和诸如疱疹病毒的交叉反应。因此，测定巨细胞病毒 IgG 抗体的亲和力可以作为重要证据，以此弄清 HCMV IgM 阳性结果是否和急性 HCMV 感染有关。通过对两组研究对象的 HCMV-IgG 阳性样本进行亲和力指数评估后发现，HCMV-IgG 低亲和力样本中孕产史不良孕妇所占比例显著高于初次妊娠孕妇，差异有统计学意义。初次妊娠组中，0.42% 为原发感染，70.04% 为既往感染，其中隐性感染占 69.20%。孕产史不良孕妇组中，7.69% 为原发感染，22.12% 为既往原发感染，61.54% 为既往感染，其中隐性感染占 53.85%。

荧光定量 PCR 技术是通过荧光信号的定量监测来实现 PCR 过程中产物的检测，并精确计算出 PCR 初始模板量，融合了 PCR 的敏感性、DNA 杂交的特异性和光谱技术精确定量等优点。从两组研究对象的 HCMV-DNA 检测结果可以发现，孕产史不良孕妇阳性例数所占比例显著高于初次妊娠孕妇，差异有统计学意义。初次妊娠组阳性感染率为 0.84%。孕产史不良孕妇组阳性感染率为 36.54%。很显然，有不良孕产史孕妇 HCMV 感染率更高。Boppana 等^[4]对孕期 HCMV 感染致不良妊娠结局病例中 HCMV 分离株的 gH 基因测序并检测到了新的毒株。提示孕妇 HCMV 继发感染中由新毒株再次感染者，其宫内感染胎儿出生后多表现出临床症状。而体内潜在感染病毒被激活者，受累胎儿出生时则多无临床表现。本文中，孕产史不良孕妇 B 组中，亲和力指数试验表明 15 例样本中有 7 例存在原发感染及 1~3 月内的既往原发感染，但

HCMV-DNA 测定中有 9 例样本阳性，表明继发感染中可能存
在新毒株再次感染使 HCMV-DNA 可被检出。孕产史不良孕
妇组中 38 例 HCMV-DNA 阳性，其中一例 HCMV-IgM 阴性，
提示患者可能处于 HCMV 感染窗口期，抗体还未出现，但
HCMV-DNA 已可检测出。因此，采用 HCMV-DNA 检测早期
感染患者可以避免窗口期漏检。另外，Revolle 等^[5]报道，有
免疫能力的孕妇，一般只在原发感染时发生病毒血症，在感
染后的数月内，其外周血可以检测到病毒 DNA。在病毒血症
期间，母体受 HCMV 感染的白细胞可携带病毒并随血液循环
传播病毒。孕妇 HCMV 继发感染时，外周血中检测不到病毒
DNA。本文中，孕产史不良孕妇 A 组中，亲和力指数试验表
明 80 例样本中有 24 例存在原发感染及 1~3 月内的既往原发
感染，但 HCMV-DNA 测定中有 21 例样本阳性，进一步证明
了上述观点。同时，应用 RT-PCR 的方法检测孕妇血中病毒
DNA，结果阳性还可表明存在 HCMV 活动性感染。

综上所述，荧光定量 PCR 检测可以准确的反映出患者体
内 HCMV 感染及其病毒复制情况，通过病毒复制判断感染的
严重程度，指导临床用药和疗效观察^[6]。结合 HCMV-IgG 亲
和力指数测定，能很好的反映孕妇是否存在原发感染及活动
性感染这些危险因素，从而给临床提供早期诊断和预防胎儿
先天畸形的有力依据。

参 考 文 献

- [1] Revello M G, Gerna G. Diagnosis and management of human cytomegalovirus infection in the mother, fetus, and newborn infant[J]. Clin Microbiol Rev, 2002, 15(4):680-715.
- [2] Seo S, Cho Y, Park J. Serologic screening of pregnant Korean women for primary human cytomegalovirus infection using IgG avidity test[J]. Korean J Lab Med, 2009, 29(6):557-562.
- [3] Bodeus M, Hubinont C, Coubau P. Increased risk of cytomegalovirus transmission in utero during late gestation[J]. Obstet Gynecol, 1999, 93(1):658-660.
- [4] Boppana S B, Rivera L B, Fowler K B, et al. Intrauterine transmission of cytomegalovirus to infants of women with preconceptional immunity[J]. N Engl J Med, 2001, 344(1):1366-1371.
- [5] Revolle M G, Zavattoni M, Sarasini A, et al. Human cytomegalovirus in blood of immunocompetent persons during primary infection: prognostic implications for pregnancy[J]. J Infect Dis, 1998, 177(1):1170-1175.
- [6] 李晓峰, 张锐. 荧光定量 PCR 检测 HCMV-DNA 的临床意义与探讨[J]. 中国实验诊断学, 2010, 14(2):273-274.

(收稿日期:2012-08-08) (本文编辑:连胜利)

《中国医学创新》杂志二维码使用说明

为适应数字化发展的潮流,《中国医学创新》杂志在全国近千家医学学术期刊中,率先推出手机二维码功能。“论著”栏目中每篇论文中文题名下方均标识手机二维码,读者可通过应用智能手机下载相应二维码扫描软件进行扫描,即可在手机上看到当期此篇论文的作者信息及论文全文。详情请电话咨询。

联系电话 {010}63357546

传 真 {010}51112831

本刊网址 <http://www.zgyxcx.com>